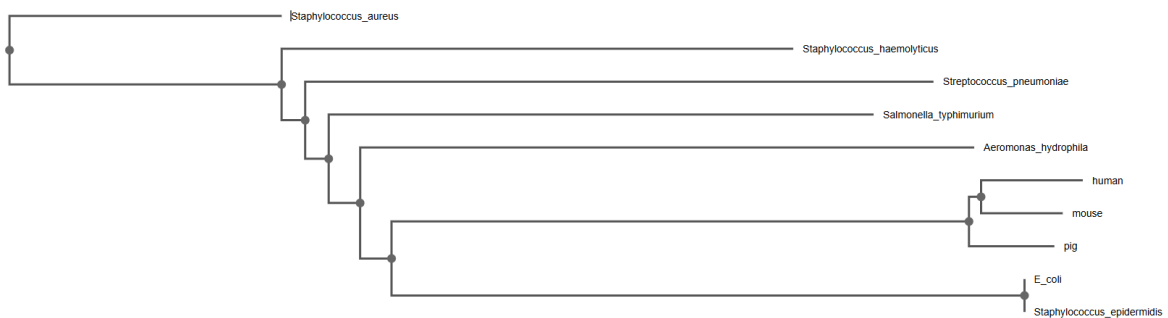


3. EVOLUCIJSKI RAZVOJ

- **Ali je dihidroksifolat reduktaza iz *Staphylococcus aureus* evolucijsko podobna človeški? Razloži.** Ne, DHFR iz *Staphylococcus aureus* je zelo oddaljena od človeške oziroma od vseh sesalskih DHFR. Bakterije in evkarionti so se že zelo zgodaj evolucijsko ločili, kar se potem pozna tudi na sami evoluciji encimov. Kljub temu, da encim v bakterijah in v sesalcih opravlja zelo podobno vlogo, pa se je skozi leta razvijal in adaptiral drugače.

- **Kako bi lahko evolucijsko razliko med bakterijo in človekom uporabili pri zasnovi antibiotikov, ki delujejo na bakterije?** Ker si človeška in bakterijska DHFR nista preveč evolucijsko podobni, to pomeni, da se je skozi čas njuna zgradba spremenila. Najverjetneje je prišlo tudi so sprememb v aktivnem mestu, kar pomeni, da lahko zasnujemo antibiotik, ki se bo lahko vezal le v aktivno mesto bakterijske DHFR, ne bo pa inhibiral človeške.



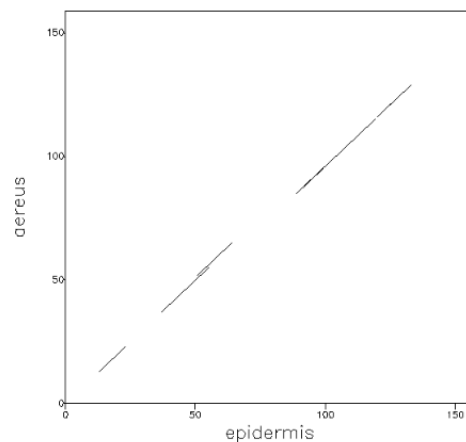
Slika 2: Slika prikazuje filogenetsko drevo z različnimi organizmi. Vse veje izhajajo iz *Staphylococcus aureus*.

- **Kakšna je evolucijska podobnost med *Staphylococcus aureus* in *Staphylococcus epidermidis*? Naredi še analizo zaporedja s točkovnim diagramom (EMBOSS DOTMATCHER) in argumentiraj rezultate.**

Evolucijska podobnost med njima je zelo majhna, pričakovali bi da bosta bližje skupaj.

Pri zelo podobnih proteinih bi pričakovali ravno, sklenjeno črto, na našem točkovnem diagramu ni tako. Vidimo več segmentov ujemanj, kar je pričakovano, saj imata ta encima vseeno zelo podobno funkcijo in sta si sorodna. Prekinitev vmes pa nakazujejo na mutacije in delecije. Ker je prekinjena črta še vedno v enaki liniji, to nakazuje, da ni prišlo do velikih reorganizacij in sta encima evolucijsko sorodna.

Dotmatcher: fasta::emboss::dotmatcher-I20260513-205009-07...
(windowsize = 10, threshold = 23.00 13/05/26)



Slika 3: Točkovni diagram encimov DHFR iz *Staphylococcus aureus* in *Staphylococcus epidermidis*.

4. STRUKTURNA PODOBNOST

- **Kakšno je ujemanje teh dveh proteinov?**

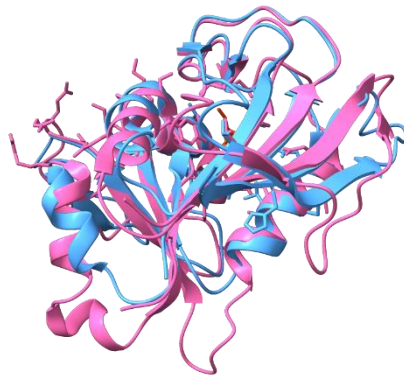
Proteina se zelo dobro prekrivata, kljub temu, da smo prej pri filogenetskem drevesu ugotovili, da sta

evolucijsko precej različna. α -vijačnice in β -trakovi se lepo prekrivajo, β -trakovi so tudi orientirani v isti smeri. Linkerji so nekoliko bolj fleksibilni in se ne prilegajo tako zelo dobro, vendar so približno istih dolžin in na istih mestih.

- **Ali se ligand lepo usede v aktivno mesto?** Da, vstop v aktivno mesto ni pretirano oviran niti pri človeškemu encimu, niti pri bakterijskemu. Pri obeh je narejena »vdolbinica« kamor se lepo prilega ligand.

- **Kakšne interakcije tvori Trimetoprim z encimom? Označi jih in poimenuj s katerimi aminokislinskimi ostanki interagira.** Interakcije so vodikove vezi, vse skupaj tvori 4 vezi – ena vez z Leu, ena z Phe in dve z Asp.

Slika 5: Slika superpozicije človeške in bakterijske DHFR z ligandom v aktivnem mestu. Roza barva prikazuje človeški encim,



Slika 4: Slika prikazuje superpozicijo človeške in bakterijske DHFR. Roza barva prikazuje človeški encim modra barva pa bakterijski encim.



modra prikazuje bakterijski encim, z rdečo pa je pobarvan ligand - Trimetoprim.

Kako bi lahko kombinacija strukturne biologije, evolucijske analize in seveda bioinformatike pripomogel k razvoju naprednih antibiotikov, ki bi se težje izognili bakterijski rezistenci?

Strukturna biologija nam razkrije tridimenzionalno obliko encima, lahko vidimo aktivno mesto in prileganje ligand vanj. Pogledamo lahko tudi interakcije med ligandom (ki je lahko antibiotik) in encimom. Na račun poznavanja natančnih interakcij lahko oblikujemo molekule, ki se bodo na encim vezale močnejše, globlje oziroma bolj specifično, kar oteži razvoj odpornosti. Preko evolucijske analize izvemo, katere aminokisliline so zelo dobro ohranjene in zato funkcionalno kritične. Če bi inhibitor ciljaj te regije, bi preprečili mutacije in s tem povzročili izgubo encimske aktivnosti. Bioinformatika pa nam omogoča primerjavo različnih variant, vrst encima, lahko napovedujemo mutacije in simuliramo vezavo novih inhibitorjev, s posebnimi orodji.

